

BAB 5

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan analisis data maka dapat disimpulkan pemberian diet rendah magnesium :

1. Menurunkan jumlah makrofag pada tikus perlakuan dibandingkan dengan tikus kontrol.
2. Menurunkan kadar TNF- α pada tikus perlakuan dibandingkan dengan tikus kontrol.

5.2 Saran

1. Mengetahui jenis peradangan (akut, sub akut, atau kronis) yang terjadi selama 2 bulan perlakuan akibat diet rendah magnesium.
2. Menentukan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* yang disuntikkan agar dapat menyebabkan inflamasi.
3. Pemeriksaan jumlah makrofag dilakukan dengan menggunakan metode lain seperti *Automated hematology analyzer*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, K.A and A.H. Lichtman, 2007, **Cellular and Molecular Immunology**, 5th ed., ELSEVIER, Philadelphia, 4-12.
- Arisman, M.B., 2010, **Buku Ajar Ilmu Gizi Obesitas, Diabetes Mellitus & Dislipidemia**, EGC, Jakarta, 37-39, 75.
- Baratawidjaja, K.G., dan I. Rengganis, 2010, **Imunologi Dasar**, Edisi ke-9, Balai Penerbit FKUI, Jakarta, 27-40, 59-78, 259-280.
- Biolegend, 2012, **Legend Max ELISA Kit**, USA
- Brooks, G. F., Janet S.B, dan, Morse S.A, 2001, **Mikrobiologi Kedokteran**, Salemba Medika, Jakarta, 317-320.
- Brugere, C. M., Nowacki, W., Daveau, M., Gueux, E., Linard, C., Rock, E., Lebreton, J. P., Mazur, A., and Rayssiguier, Y. 2000, Inflammatory response following acute magnesium deficiency in the rat, *Biochimica et Biophysica Acta* **1501**:91-98
- Corwin., E.J, 2009, **Buku Patofisiologi**, EGC, Jakarta, 752
- Davidsohn, I and Henry J.B., 1974, **Clinical diagnosis ed.15th**, W.B. Saunders Company, Philadelphia. 117-118
- Galland L. Magnesium and immune function: an overview. *Magnesium* 1988;**7**:290–299.
- Gibson. R.S. 2005, **Principles of Nutritional Assessment**, 2th ed. Oxford University Press. New York, pp. 662-664
- Hedrich, 2006, **The Laboratory Mouse**, Elsevier. USA
- Johnson S. The multifaceted and widespread pathology of magnesium deficiency. *Med Hypotheses* 2001;**56**:163–170.
- Kayne, L. H, and Lee D.B.N, 1993, Intestinal Magnesium Absorption. *Miner Electrolyte Metab*, **19**:210–217.

- Kumar V, Abbas K.A, Fausto N, 2005, **Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease ed. 7th**, Elsevier Saunder, Philadelphia.
- Kusmardi, Shirly Kumala dan, Dwitia Wulandari, 2006, **Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Johar (Cassia siamea Lamk.) terhadap Peningkatan Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag**, Makara Kesehatan, vol.10(No.2), Jakarta, 89-93.
- Lisa., C.C, 2013, **This Mineral Could Save Your Life**. <http://health.yahoo.net/experts/dayinhealth/bio/lisa-collier-cool>
- Martin., K.J, Gonzalez E.A, and Slatopolsky E., 2009, Clinical Consequences and Management of Hypomagnesemia, *JASN vol. 20 no. 11* 2291-2295
- McCarthy, J.T and Kumar R., 1993, **Divalent Cation Metabolism : Magnesium**, Departement of Nephrology, Mayo Clinic and Foundation, Rochester
- Pudjaatmaka, A.H., 2002, **Buku Kamus Kimia**, Balai Pustaka, Jakarta, 465
- Quamme GA, 1993, **Magnesium Homeostasis and Renal Magnesium Handling**, *Miner Electrolyte Metab*, 19:218–225.
- Rantam, F.A., 2003, **Metode imunologi**, Airlangga University Press, Surabaya, 82-85.
- Robinson, C., 1972. **Normal and Therapeutic Nutrition**, 14th ed. Macmillan, New York, pp. 416-425.
- Sales C.H, and Pedrosa L.D.F.C., 2006, **Magnesium and diabetes mellitus: their relation**. *Clinical Nutrition*, 25;554-562.
- Saris NE, Mervaala E, Karppanen H, Khawaja JA, Lewenstam A, 2000, Magnesium: an update on physiological, clinical, and analytical aspects. *Clinica Chimica Acta*, 294:1-26.
- Saris W. H. 2000, Randomized controlled trial of changes in dietary carbohydrate/ fat ratio and simple vs complex carbohydrates on body weight and blood lipids: the CARMEN study. The Carbohydrate Ratio Management in European National diets,

- Shils, M.E. 2000, **Magnesium dalam Present Knowledge in Nutrition Sixth Edition**. Washington, D.C : ILSI.
- Smith, J B dan Mangkoewidjojo S, 1988, **Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis**. UI-Press, jakarta, 39-45.
- Soeroso, A., 2007, Sitokin, *Jurnal Oftalmologi Indonesia* Vol.5, No.3, 171-180
- Song,W., Manson, J.E., Buring, J.E. & Liu, S, 2004, **Dietary Magnesium Intake in Relation to Plasma Insulin Levels and Risk of Type 2 Diabetes in Women. Diabetes Case**, 27, 59-64
- Sutton R.A.L, 1993, **Domrongkitchaiporn S: Abnormal renal magnesium handling**, *Miner Electrolyte Metabolism*, 19:232–240.
- Swaminathan R., 2003, Magnesium Metabolism and its Disorders, **Clinical Biochemistry Review Vol 24**, 46-62
- Swenson, M.J., 1984, **Dukes Physiologi of Domestic Animals ed.10**, Cornel University pres. Ithaca
- Takaya J, Higashino H, and Kobayashi Y., 2004, **Intracellular magnesium and insulin resistance**, 17(2):126-36.
- Topf J.M, and Murray P.T, 2003, **Hypomagnesemia and hypermagnesemia. Review Endocrine Metabolism Disorder**. 4:195-206.
- Wasito, H., Sani Ega Priani dan, Yani Lukmayani, 2008, **Uji Aktivitas Antibakteri Madu terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus***, <http://hendriapt.wordpress.com/2008/11/14/uji-aktivitas-antibakteri-madu-terhadap-bakteri-staphylococcus-aureus/> diakses 16 Agustus 2013.

- Widodo, W, 2006, **Penghantar Ilmu Nutrisi Ternak tahun**, Universitas Muhammadiyah Malang
- Zainal A. 2008. **Beberapa Unsur Mineral Esensial Mikro dalam Sistem Biologi dan Metode Analisis**. Jurnal Litbang Pertanian, 27(3).
- Zainuddin, M., 2000, **Metodologi Penelitian**, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya, 52-54

LAMPIRAN A

PENENTUAN JUMLAH MAKROFAG

Preparasi Larutan Turk

Komposisi dari Larutan Turk adalah sebagai berikut :

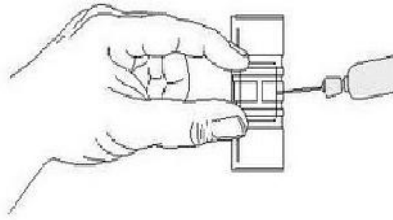
Asam asetat glasial	3 ml
Larutan gentian violet 1 %	1 ml
Aquades	ad 100 ml

Cara pembuatan larutan Turk :

Larutan gentian violet 1 % diukur sebanyak 1 ml, lalu asam asetat glasial diukur sebanyak 3 ml. Kedua bahan dicampur di dalam *beaker glass* 100 ml. Kemudian ditambahkan aquades ad 100 ml, aduk hingga homogen dan disaring sebelum digunakan (PT. Onemed).

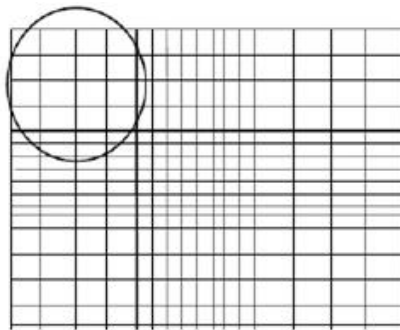
Penentuan Jumlah Makrofag

Cairan peritoneum diambil dengan menggunakan pipet lekosit sampai tanda 0,5. Lalu ujung pipet diletakkan secara vertikal dan larutan Turk ditambahkan secara perlahan sampai tanda 11. Larutan di campur dengan memutar bolak-balik pipet lekosit dan buang 3 tetes pertama. Bersihkan hemositometer dengan menggunakan etanol 70%. Pipet dipegang dengan posisi vertikal dengan jari telunjuk menutup puncak pipet, lalu ujung pipet diletakkan pada tepi kamar hitung dan biarkan cairan mengalir di bawah gelas penutup sampai memenuhi kamar hitung.



Gambar A.1 Penggunaan Hemositometer (Swenson, 1984)

Kemudian cairan peritoneum dibiarkan 1 menit di dalam kamar hitung (gambar) sebelum diperiksa jumlah makrofag. Makrofag dihitung dengan menggunakan mikroskop pada pembesaran 40 X obyektif. Jika terdapat sel yang menempel pada garis batas, maka sel yang dihitung hanya sel yang berada di bidang kiri atas sedangkan yang kanan bawah tidak perlu dihitung, ataupun juga sebaliknya (Swenson, 1984).



Gambar A.2 Grid Hemositometer (Swenson, 1984)

Cara penghitungan jumlah makrofag adalah sebagai berikut :

Jumlah sel makrofag x koreksi isi x koreksi pelarut

Koreksi isi dari 4 bidang adalah 2,5. Karena darah dilarutkan pada perbandingan 1:20, maka koreksi pelarut adalah 20. Dimana untuk hasil

yang akurat ke-4 kolom tersebut harus mempunyai jumlah sel makrofag yang tidak berbeda jauh yaitu tidak lebih dari 10 sel (Davidsohn and Henry 1974).

LAMPIRAN B

PENENTUAN KADAR TNF-

1. Reagen, sampel dan standar disimpan pada suhu -20°C
2. Preparasi reagen, sampel dan standar pada suhu ruang ($18-25^{\circ}\text{C}$) sebelum digunakan.
3. Pengenceran standar dilakukan dengan persiapan $500\mu\text{l}$ dari 500 pg/ml *top standard* dengan mengencerkan $12,5\mu\text{l}$ *standard stock solution* ke dalam $487,5\mu\text{l}$ *Assay Buffer A*, kemudian pengenceran 2 kali sebanyak 6 seri dilakukan dari 500 pg/ml *top standard* di tabung yang berbeda, menggunakan *Assay Buffer A* sebagai pengencer. Jadi, konsentrasi TNF-alpha yang ada di tabung adalah 500 pg/ml , 250 pg/ml , 125 pg/ml , $62,5\text{ pg/ml}$, $31,3\text{ pg/ml}$, $15,6\text{ pg/ml}$, dan $7,8\text{ pg/ml}$. *Assay Buffer A* bertindak sebagai standar nol (0 pg/ml).
4. Plate dicuci sebanyak 4 kali dengan $300\mu\text{l}$ $1 \times$ *Wash Buffer* untuk setiap sumuran dan buffer yang tertinggal dibuang dengan cara menepuk *plate* yang terbalik pada selembar *tissue*.
5. Pengukuran sampel serum/plasma dilakukan dengan menambahkan $50\mu\text{l}$ matriks A ke dalam sumuran kolom 1 dan 2 yang akan mengandung pengenceran *standard*. Kemudian tambahkan *standard dilution* ke dalam kolom 1 dan 2 yang telah diisi matrix A. *Assay Buffer A* sebanyak $50\mu\text{l}$ ditambahkan ke dalam sumuran kolom 3-10 yang akan mengandung sampel. Plasma yang telah diencerkan sebanyak $50\mu\text{l}$ ditambahkan ke dalam sumuran yang mengandung *Assay Buffer A*.
6. Plate ditutup dengan *plate sealer* yang ada dalam *kit* dan diinkubasi pada temperatur ruang selama 2 jam dengan *shaking* (200 rpm).

7. Setelah inkubasi 2 jam, isi di dalam sumuran dibuang, kemudian *plate* dicuci dengan 1x *Wash Buffer* seperti pada tahap 4.
8. *Solution* antibodi TNF- sebanyak 100 µl ditambahkan ke dalam setiap sumuran dan diinkubasi pada suhu ruang selama 1 jam dengan *shaking*.
9. Setelah inkubasi, isi di dalam sumuran dibuang, kemudian *plate* dicuci dengan 1x *wash buffer* seperti pada tahap 4.
10. *Solution* Avidin-HRP D 100 µl ditambahkan ke dalam setiap sumuran, *plate* ditutup dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit dengan *shaking*.
11. Setelah inkubasi, isi di dalam sumuran dibuang, kemudian *plate* dicuci dengan 1x *wash buffer* seperti pada tahap 4. Untuk pencucian terakhir ini, sumuran direndam dalam 1x *wash buffer* selama 30 detik sampai 1 menit untuk setiap sumuran. Hal ini akan membantu meminimalisir *background*.
12. Substrat *solution* F sebanyak 100 µl ditambahkan ke setiap sumuran dan diinkubasi selama 15 menit di dalam gelap. Sumuran yang mengandung TNF- tikus dalam sumuran akan mengalami perubahan warna menjadi biru berbanding lurus dengan konsentrasi.
13. Selanjutnya ditambahkan 100 µl *stop solution* (2N asam sulfat) ke dalam setiap sumuran, warna *solution* akan berubah dari biru menjadi kuning.
14. Kemudian dibaca pada *microplate reader* dengan panjang gelombang 450 nm (dalam 30 menit), pembacaan dikoreksi pada panjang gelombang 570 nm (Biolegend, 2012).

LAMPIRAN C

KEBUTUHAN NUTRISI TIKUS

Konsentrasi		
Nutrisi	Masa pertumbuhan, kehamilan dan laktasi	Pemeliharaan
<i>Protein (as ideal protein)</i>	12.00%	4.20%
<i>Fat^c</i>	5.00%	5.00%
<i>Digestible energy</i>	3800.00 kcal/gm	3800.00 kcal/gm
<i>Minerals</i>		
<i>Calcium</i>	0.50%	
<i>Chloride</i>	0.05%	
<i>Magnesium</i>	0.04%	
<i>Phosphorus</i>	0.40%	
<i>Potassium</i>	0.36%	
<i>Sodium</i>	0.05%	
<i>Sulfur</i>	0.03%	
<i>Chromium</i>	0.30 mg/kg	
<i>Copper</i>	5.00 mg/kg	
<i>Fluoride</i>	1.00 mg/kg	
<i>Iodine</i>	0.15 mg/kg	
<i>Iron</i>	35.00 mg/kg	
<i>Manganese</i>	50.00 mg/kg	
<i>Zinc</i>	12.00 mg/kg	
<i>Vitamin</i>		
A	4000.00 IU/kg	
D	1000.00 IU/kg	
E	30.00 IU/kg	
K	50.00 gm/kg	
Riboflavin	3.00 mg/kg	
Thiamin	4.00 mg/kg	
Vitamin B₆	6.00 mg/kg	
Vitamin B₁₂	50.00 µg/kg	

* From National Research Council (1978).

LAMPIRAN D
Komposisi Pakan Standar Tikus BR-1 (PT. Charoen Pokphand
Indonesia)

Komposisi	Persentase (%)
Protein kasar	21 – 23
Lemak kasar	5
Serat kasar	5
Kadar abu	7
Kalsium	0,9
Fosfor	0,6
Air	13

Komposisi mineral-premix (Eka Farma, Semarang)

Komposisi	Persentase (%)
Kalsium	43-45
Fosfor	10-12
Ferrum	4,40
Cuprum	0,044
Mangan	0,397
Iodium	0,002
NaCl	10
Magnesium	3,30
Zink	0,50
Cyanocobalamin	1,545 mcg

LAMPIRAN E
HASIL PENIMBANGAN BERAT BADAN TIKUS

Berat Badan Tikus per minggu (gram)										
Perlakuan	Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3	Minggu 4	Minggu 5	Minggu 6	Minggu 7	Minggu 8	Minggu 9	Minggu 10
Kontrol 1	179	231	253	274	304	311	319	341	352	360
Kontrol 2	206	233	242	233	270	277	284	298	305	310
Kontrol 3	171	197	189	196	232	241	251	261	266	275
Kontrol 4	222	254	263	276	294	298	304	316	326	341
Kontrol 5	217	221	237	256	272	277	283	293	299	313
Kontrol 6	196	206	218	234	238	242	247	260	276	279
Kontrol 7	238	238	243	260	282	286	291	302	308	320
Kontrol 8	222	233	249	260	276	287	299	310	318	324
Rerata ± SD	206,37± 23,02	226,62± 18,18	236,75± 23,30	248,62± 26,54	271± 25,00	277,37± 24,77	284,75± 24,93	297,62± 27,17	306,25± 27,29	315,25± 28,61

LANJUTAN HASIL PENIMBANGAN BERAT BADAN TIKUS

Berat Badan Tikus per minggu (gram)										
Perlakuan	Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3	Minggu 4	Minggu 5	Minggu 6	Minggu 7	Minggu 8	Minggu 9	Minggu 10
Rendah Mg 1	241	223	233	242	257	260	265	283	282	298
Rendah Mg 2	208	262	270	268	293	298	303	309	320	327
Rendah Mg 3	186	216	240	251	276	279	289	304	309	324
Rendah Mg 4	237	252	268	283	298	305	313	319	319	322
Rendah Mg 5	193	210	227	249	259	264	270	290	304	317
Rendah Mg 6	220	249	264	261	282	288	296	309	331	334
Rendah Mg 7	209	231	235	242	266	274	282	295	303	311
Rendah Mg 8	246	247	257	292	318	325	332	347	351	370
Rerata ± SD	217,5±	236,25±	249,25±	261±	281,12±	286,62±	293,75±	307±	314,87±	325,37±
	22,37	18,86	17,35	18,74	21,08	21,97	22,28	19,89	20,64	21,07

LAMPIRAN F

SELISIH BERAT BADAN TIKUS (minggu ke 10 dan minggu 1)

PERLAKUAN	Berat Badan (gram)
kontrol 1	129
kontrol 2	77
kontrol 3	78
kontrol 4	87
kontrol 5	92
kontrol 6	73
kontrol 7	82
kontrol 8	91
Rerata ± SD	88,62 ± 17,67
Rendah Mg 1	75
Rendah Mg 2	65
Rendah Mg 3	108
Rendah Mg 4	70
Rendah Mg 5	107
Rendah Mg 6	85
Rendah Mg 7	80
Rendah Mg 8	123
Rerata ± SD	89,12 ± 20,94

Perhitungan persentase peningkatan berat badan :

a. **Perlakuan Kontrol**

$$\frac{\text{Berat badan tikus minggu ke 10} - \text{Berat badan tikus ke 1}}{\text{berat badan tikus minggu terakhir}} \times 100\%$$

$$\frac{315,25 - 226,62}{315,25} \times 100\% = 28,11$$

b. Perlakuan rendah magnesium

$$\frac{\text{Berat badan tikus minggu ke 10} - \text{Berat badan tikus ke 1}}{\text{berat badan tikus minggu terakhir}} \times 100\%$$

$$\frac{325,37 - 236,25}{325,37} \times 100\% = 27,39 \%$$

LAMPIRAN G

HASIL ANALISIS STATISTIK *INDEPENDENT T-TEST* BERAT BADAN TIKUS WISTAR JANTAN KELOMPOK KONTROL DAN PERLAKUAN DIET RENDAH MAGNESIUM

Group Statistics

	kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
BB	kontrol	8	88.63	17.671	6.248
	Rendah Mg	8	89.13	20.945	7.405

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
BB	Equal variances assumed	1.237	.285	-.052	14	.960	-.500	9.689	-21.280	20.280
	Equal variances not assumed			-.052	13.614	.960	-.500	9.689	-21.336	20.336

LAMPIRAN H
HASIL PERHITUNGAN JUMLAH MAKROFAG

PERLAKUAN	Jumlah makrofag (sel/mm³)
kontrol 1	3150
kontrol 2	2900
kontrol 3	2800
kontrol 4	2350
kontrol 5	3000
Rerata ± SD	2840±320,90
Rendah Mg 1	2350
Rendah Mg 2	1500
Rendah Mg 3	2400
Rendah Mg 4	1300
Rendah Mg 5	1150
Rerata ± SD	1740±593,08

Perhitungan persentase penurunan jumlah sel makrofag diet rendah magnesium dibandingkan dengan kontrol :

$$\frac{\text{sel makrofag kontrol} - \text{sel makrofag diet rendah Mg}}{\text{sel makrofag kontrol}} \times 100\%$$

$$\frac{2840 - 1740}{2840} \times 100\% = 38,73 \%$$

LAMPIRAN I

HASIL ANALISIS STATISTIK *INDEPENDENT T-TEST* JUMLAH MAKROFAG TIKUS WISTAR JANTAN KELOMPOK KONTROL DAN PERLAKUAN DIET RENDAH MAGNESIUM

Group Statistics

kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
makrofag kontrol	5	2840.00	302.903	135.462
rendah Mg	5	1740.00	593.085	265.236

Independent Samples Test

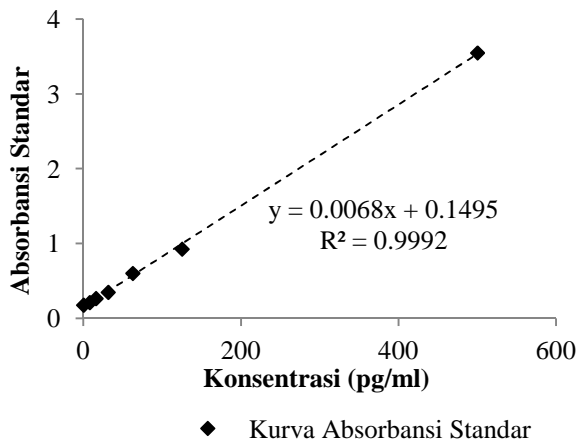
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
makrofag	Equal variances assumed	6.767	.032	3.693	8	.006	1100.000	297.825	413.213	1786.787

LAMPIRAN J

LINEARITAS BAKU STANDAR TNF- α

Konsentrasi (pg/ml)	Absorbansi Standar		Rerata \pm SD
	Rep 1	Rep 2	
500	3,977	3,118	3,54 \pm 0,60
125	0,826	1,021	0,92 \pm 0,13
62,5	0,553	0,649	0,60 \pm 0,06
31,3	0,311	0,382	0,34 \pm 0,05
15,6	0,246	0,278	0,26 \pm 0,02
7,8	0,207	0,212	0,20 \pm 0,003
0	0,167	0,185	0,17 \pm 0,01

Grafik Absorbansi Standar



LAMPIRAN K
KADAR TNF- KELOMPOK KONTROL

Kelompok	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi rata-rata	Kadar (pg/ml)
K 1	0,201	0,221	0,21	9,08
K 2	0,309	0,321	0,31	24,45
K 3	0,269	0,212	0,24	13,44
K 4	0,297	0,28	0,28	20,53
K 5	0,204	0,194	0,19	7,31
Rerata ± SD				14,96 ± 7,35

KADAR TNF- KELOMPOK RENDAH MAGNESIUM

Kelompok	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi rata-rata	Konsentrasi (pg/ml)
Mg 1	0,196	0,193	0,19	6,64
Mg 2	0,225	0,2	0,21	9,30
Mg 3	0,209	0,195	0,20	7,75
Mg 4	0,219	0,221	0,22	10,41
Mg 5	0,204	0,226	0,21	9,67
Rerata ± SD				8,75 ± 1,52

Perhitungan persentase penurunan kadar TNF- α diet rendah magnesium dibandingkan dengan kontrol :

$$\frac{\text{rerata kadar kontrol} - \text{rerata kadar diet rendah } M_1}{\text{rerata kadar kontrol}} \times 100\%$$

$$\frac{14,96 - 8,75}{14,96} \times 100\% = 41,51\%$$

LAMPIRAN L

HASIL ANALISIS STATISTIK *INDEPENDENT T-TEST* KADAR TNF- TIKUS WISTAR JANTAN KELOMPOK KONTROL DAN PERLAKUAN DIET RENDAH MAGNESIUM

Group Statistics

kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TNFalpha kontrol	5	14.9662	7.35804	3.29062
rendah Mg	5	8.7594	1.52919	.68388

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
TNFalpha	Equal variances assumed	12.424	.008	1.847	8	.102	6.20678	3.36093	-1.54353	13.95710
	Equal variances not assumed			1.847	4.345	.133	6.20678	3.36093	-2.83966	15.25323

LAMPIRAN M
SURAT SERTIFIKAT TIKUS PUTIH JANTAN

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Heri Soemantoro
NIP : 196302021988031002

Menerangkan bahwa :

Nama : **Irene Patricia de Lourdes Lac**
Pekerjaan : **Mahasiswa**

Telah membeli tikus jantan (*Ratus norvegicus L.*) usia 3 bulan sejumlah 40 ekor dalam keadaan sehat dari Kandang Hewan coba Biokimia Kedokteran FK Unair

Demikian surat keterangan ini dibuat agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Atas kerjasama yang baik diucapkan terima kasih.

Surabaya, 19 April 2013

Koordinator



LAMPIRAN N
SERTIFIKAT *ETHICAL CLEARANCE*



KOMISI ETIK PENELITIAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
Animal Care and Use Committee (ACUC)

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
" ETHICAL CLEARANCE "

No : 296-KE

KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA,
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA :

PENELITIAN BERJUDUL : Pengaruh Diet Tinggi Fruktosa Rendah Magnesium
Terhadap Jumlah Makrofag, Netrofil dan Kadar Sitokin
Dalam Darah Tikus Putih

PENELITI UTAMA : Ratna Megawati

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT PENELITIAN : Universitas Katholik Widya Mandala Surabaya

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Surabaya, 29 Mei 2013

Mengetahui,
Dekan FKH-Unair,

Prof. Romziah Sidik, Ph.D.,drh.
NIP. 195312161978062001

Ketua,

Dr. E. Bimo Aksono, M.Kes.,Drh.
NIP. 196609201992031003